



TITLE:

弗素の骨折治癒に及ぼす影響に関する実験的研究

AUTHOR(S):

重城, 良一

CITATION:

重城, 良一. 弗素の骨折治癒に及ぼす影響に関する実験的研究. 日本外科宝函 1958, 27(5): 1210-1231

ISSUE DATE:

1958-09-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/206687>

RIGHT:

弗素の骨折治癒に及ぼす影響に関する実験的研究

京都大学医学部整形外科科学教室 (指導: 近藤鋭矢教授)

大学院学生 医学士 重 城 良 一

〔原稿受付 昭和33年 7月10日〕

EXPERIMENTAL STUDIES ON THE EFFECTS OF FLUORINE UPON THE REPAIR OF BONE FRACTURES

by

RYOICHI JUJO

From the Orthopedic Division, Kyoto University Medical School

(Director: Prof. Dr. Eishi Kondo)

The present author studied on the mechanism of the effects of fluorine upon the repair of experimental bone fracture in fluorine poisoning rabbits. The experiments were performed in 75 young rabbits, each being about two months of age and weighing about 500~600 grams, which were divided into five groups. Out of five groups, the four groups were subjected to the experiments of fluorine poisoning and the remaining one for the controls. 1% NaF physiological saline solution were injected daily during a period of seven weeks in the experimental four groups, at the rate of 40 mg, 20 mg, 10 mg and 5 mg per Kg in weight, and no fluorine was administrated in the control group. Once every week after three weeks of the injections, fractures were produced experimentally in the first metatarsal bone of the left and next week of the right sides, again next week of the third metatarsal bone of the left and then of the right sides respectively. At the eighth week of the experiments, the rabbits were sacrificed and the fractured bone were investigated roentogenologically and also microscopically. The histochemical studies, such as Alkaline Phosphatase reaction by TAKAMATSU-AKAHOSHI's method, PAS reaction and Metachromasia stain were applied in order to clarify the effects of fluorine upon the healing processus of the fractured part and also to investigate some of the dynamic mechanisms engaged in fluorine poisoning. Other organs such as liver, kidney, spleen, supra-renal glands and lymph glands were also investigated in the same way.

A SUMMARY OF THE RESULTS OBTAINED AS FOLLOWS:

1) No significant change in general conditions as well as body weight was noted. In the groups administrating large doses of fluorine, degenerative changes were found to some extent in liver, spleen etc. However, these changes are not so characteristic as those of bones.

2) Roentogenologically, no significant changes were found in the groups of small doses of fluorine were administered. In the groups administrating large

doses of fluorine, however, revealed the excessive callus formation, and so in some animals in these groups were delayed the new bone formation as a whole in spite of the abundant callus formation, and the central transparent zone was survived until the late stage of fracture. And also the figures of the abundant callus at the end of fractured bones were much remarkable than those of the control groups.

3) In the histological investigations, the absorption of the callus and also its transformation to bony structures were unproportionates. Therefore, in some parts the process of calcification was marked but in other parts the cluster of cartilage cells remained for a long time. These findings suggested that there is an irregularity at the healing process of fractured bone in the fluorine poisoning animals. Moreover, the thickness of epiphyseal columns were also disproportioned as a whole, it seems like longer than those of control group.

4) Disproportion between the amount of excessively produced cartilaginous callus and newly developing bony structure was also clarified by histochemical investigations. The decrease of alkaline phosphatase in osteoclastic cells and also in the cluster of cartilage cells which remaining for a long period were marked, especially in the groups administrating large doses of fluorine. At the epiphyseal disks of the experimental animals, surviving non-maturing cartilage cells were found out among the layer of calcifying cartilage by histochemical investigations. These facts seems to indicate that fluorine has such a strong affinities to combine with calcium that abnormality in composition of repairing bone is caused and a ratio in the content of CaF_2 is increased, and accordingly, partial and heterogenous deposits of calcium may be induced which in turn the absorption of callus and its transformation to newly developed bone may be delayed partially.

5) It has been pointed out that bone fractures are frequently seen in school children who live in so-called "fluorine areas." However, judging from the present experimental studies, such events may happen only in children who drink the natural water which contains much fluorine, and not in children using service water which contains only a small doses of fluorine. However, even if service water which contains only a small doses of fluoride is used, in cases of malnutrition or being suffered from some kind of diseases, it might be considered that disproportion in the repair of bone fracture may be induced. Accordingly, this fact should be taken into consideration in case of treating of bone fractures.

目 次

第1章 緒 言	第5節 20mg/kg 投与群に於ける組織学的並に組織化学的所見
第2章 実験方法	第6節 10mg/kg 投与群に於ける組織学的並に組織化学的所見
第1節 動物実験	第7節 5mg/kg 投与群に於ける組織学的並に組織化学的所見
第2節 観察方法	第8節 弗素投与群に於ける骨変化の小括
第3章 実験成績	第9節 弗素投与の主要臓器に及ぼす影響
第1節 一般状態並に体重の変化	第4章 総括並に考案
第2節 レ線学的所見	第5章 結 語
第3節 対照群に於ける組織学的並に組織化学的所見	主要文献・附図
第4節 40mg/kg 投与群に於ける組織学的並に組織化学的所見	

第1章 緒 言

弗素は生体の正常構成成分として微量に存在するものであるが、弗素化合物を極めて少量宛でも長期間摂取し体内に蓄積されると種々の慢性中毒症状を呈し、特に歯牙及び骨組織に特有な変化がみられる事は Rohlen 他多くの報告がみられる。又地方病の1つである斑状歯 (Mottled Teeth) も飲料水中における弗素の高濃度に起因する事が Churchill, Smith 等によつて指摘されている。

然し最近では斑状歯は齲蝕に強い抵抗性を示す事から、世界各地で上水道への弗素混入による齲蝕予防法が実施されて居る。又近代化学工業の発達に伴い、アルミニウム、明礬、苛性ソーダの原料であり、且つ弗素を多量に含有する氷晶石を取扱う鉱山又は工場或いは、弗素樹脂、農薬工場に於ても盛んに弗素化合物を取扱う様になつたため、日常弗化物に接する機会もますます広くなり、その中毒症状については尚考慮さるべき問題が残されている。

慢性弗素中毒の場合の骨変化としては、人体に於ては広汎且つ強度の骨硬化症を惹起した例が報告されているが、実験的研究によると、むしろ骨硬化よりも骨粗鬆症或いは骨質の軟化を来すとの報告が多く、弗素を投与した事によつて、如何なる機転でこの様に全く相反する種々な骨変化を示すかと云う根本的な作用機転については未だ充分解明されていない。しかし弗素はカルシウムに対し強い親和力を有し、生体におけるカルシウム結合に特異な影響を与える事、且つアルカリフォスファターゼ、その他の酸化還元酵素素に対して著明な阻害作用のある事は知られている。

著者は弗素中毒の状態にある骨組織が如何なる変化を示し、どの様な機転で推移するかを追求する目的で、弗素中毒家兎に実験的骨折を惹起せしめて尚お弗素投与を継続しつつ、その骨折治癒機転に及ぼす影響を線学的並びに組織学的に検索すると共に、骨軟骨代謝に重要な役割を演ずるアルカリフォスファターゼ (以下 Al-P-ase と略す) 及び PAS, メタクロマジー反応物質の骨折部及び、骨端軟骨部における消長の推移を組織化学的に検索し興味ある知見を得たので茲に報告する。

第2章 実験方法

第1節 動物実験

1. 実験動物としては、生後約2ヵ月の体重500乃至

600gの幼若家兎を各々分離して飼育し、オカラを主食とし、その他新鮮な野菜を加えた。

2. 実験動物は5群に分ち、1%弗化ソーダ水溶液を次の如き量及び方法で連日耳静脈より注射し各群について比較検討した。

第1群 40mg/kg

第2群 20mg/kg

第3群 10mg/kg

第4群 5mg/kg

第5群 対照 (弗化ソーダ注射せず)

第2節 観察方法

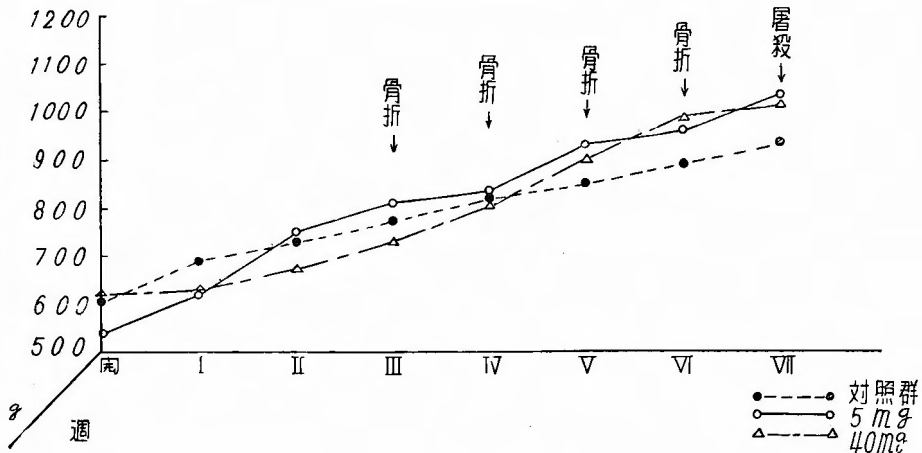
1. 弗素注射開始直後より1週間毎に全家兎の体重を測定し、全身状態の変化に注意しつつ3週間この前処置注射を行い、引続き連日注射を続行しつつ、第4週目に左第1趾骨、第5週目に右第1趾骨、第6週目に左第3趾骨、第7週目に右第3趾骨に観血的に骨折を起さしめ、注射開始より8週目に動物を空気栓塞により致死せしめた。



(附図1. レ線写真参照)

2. 実験家兎全部について屠殺時、骨折部のレ線撮影を行つた後、骨折部及び骨端軟骨、全身主要臓器を剔出、直ちに無水アルコール、純アセトン等量混合液に投じて固定し、骨組織は12~24時間後に固定液浸透の程度に従つて矢状面方向にその両側から鋸断、鋸磨して3~5mmの薄い標本とし、更に2,3日間充分に固定した。

次いで高松一赤星法により5%中性 EDT 液を使用して脱灰し、ツエロイジン包埋の後、骨組織のヘマトキシリン、エオジン染色 (以下 H・E 染色と略す)、Al-P-ase 染色、PAS 反応、コンドロイチン硫酸を目標とするメタクロマジー反応を行い検鏡した。又肝、腎、脾臓、副腎、淋巴節 (膝臓部) についても H・E 染色、Al-P-ase 染色を行つた。



第 1 図

第3章 実験成績

第1節 一般状態及び体重の変化

図1は検索を行つた動物の実験開始日から屠殺迄1週間毎の体重曲線であるが、図表の煩雑化をさけて対照群、40mg/kg 及び5mg/kg 投与群の3群のみの体重推移曲線を描いた。これによつてもわかる如く静脈内大量注射によつて、一時的に軽度の体重の増加が停止するが間もなく恢復し、対照と殆んど差を認めない。時にはむしろ体重の増加を来したものもあつた。又全身状態に於ても2例に各一度宛注射直後テナー様症状を来した事があつたが、其の他特に著変を認めなかつた。

第2節 レ線所見

骨折片の転位度の著明なもの、或いは遊離小骨片の介在、感染等の2次的要素は除外したが、骨折端接合全く同程度のもののみを求める事は困難であり、且つ、又中足骨の如き小さな長管骨の骨折実験では、上述の如き2次的要因或いは動物個体の栄養状態にも強く影響されるため、レ線学的に微細な変化を求める事は困難であるので、著明にあらわれた変化について小括的に記載する。

I) 対照群に於ては、骨折後1週で既に骨折両端或いは片側の骨幹部より骨皮質に沿つて淡い陰影を生じて来ると共に、その部分の骨幹部骨皮質は陰影が濃くなり、その厚さが稍増してくる。

骨折後2週では骨幹部より生じた陰影はその巾を増大しつつ骨折端に向つて拡大し、既にその両端の接合するものもみられる。3週後では両端からの陰影が全

く連絡し骨折部を中心として架橋を完成して紡錘状となり、骨折部両端の骨幹部骨皮質の陰影も濃くなり接合してくるが、その中に中央帯状透明層がみられる。骨折後4週に於ては、骨折部を中心に紡錘状に膨隆していた外仮骨陰影の大部分は吸収され、中央帯状透明層が消失すると共に骨折端両側の骨幹部骨皮質は全く完全に癒合して密網状となり濃い陰影を示し、4～5週で略骨折部の修復は完成する。

II) 弗素投与群に於ては、5～10mg/kgの投与群では対照と著しい差は認め難いが、20～40mg/kgの大量投与群に於ては骨折後1週の所見で、骨幹部骨皮質に沿う淡い陰影は比較的少いに拘らず、2週後には大量の外仮骨陰影を見る事が多い。これらは対照群に比し稍淡い傾向はあるが量的にはむしろ対照群より遙かに多いものが可成りみられた。又3週後に於ては、大量投与群で中央帯状透明層が不規則且つ比較的大きい巾をもつてみられるものがあり、外仮骨陰影も骨折両端からラッパ状に拡がり近接はするが接合の遅延する傾向が明かにみられる。且又骨折両端骨幹部骨皮質の陰影が濃く断端に不規則雲架状の濃い陰影を認めたものもあつた。又中央帯状透明層の幅員が大きく、一部では外仮骨中に入りその部も透明層の連続とみられる様な所見を呈するものがあつた。即ち外仮骨陰影は大量に出現するが、淡い陰影を呈するか、或いは殆ど陰影を呈しない様な透明帯が比較的多い。骨折後4週に於ては、外仮骨の吸収が大量投与群は勿論、少量投与群でも対照群に比して遅く、殊に大量投与群では中央帯状透明層が4週後でも大きい幅員を以て遺残し、骨折両端からの外仮骨像が皿状の辺縁隆起を示し、両端

の接着が完成されないものもみられた。又此の様な変化の特に著しいものでは骨折両端の骨幹部骨皮質の陰影も極めて濃いに拘らず接合するに至らず、明らかに仮関節形成を示すものが見られた。

即ち弗素投与群に於ては、外仮骨陰影は対照群よりも量的に多いものが可成りみられるが、その陰影は骨折初期には淡い傾向があり3~4週後に於ても稍透明な感じのする部分がみられる。又骨折端部の骨硬化度は比較的強いが不規則で、且つ仮骨陰影の吸収が部分的に遅延し恰も仮関節の如き所見を呈するものが見られた。

然し上述の如き変化は対照群に於ても条件の如何によつては時に認められる事があり必ずしも弗素投与の影響のみとは断定し難い所見も多く、微細な変化については線学的所見のみでは掴み難い。

第3節 対照群に於ける組織学的並に組織化学的所見

第1項 骨折部の所見

I) 骨折後1週

A) H. E 染色

骨折端の接合比較的良好な例では、骨折端に僅かのヘモジデリン顆粒が残存する他手術時の影響は殆んど消失し、増殖結合織に置換され、一部に不整な類骨組織梁を形成しており、その他軟骨細胞の化生も一部に認められるが、この部では破骨細胞は少い。1方外骨膜は著しく肥厚し豊富な軟骨細胞の化生がみられる。辺縁では小型の幼若細胞が多いが、骨幹側では稍膨大した泡状化細胞も多数みられ、その部から規則正しい石灰沈着が起ると同時に軟骨性仮骨の形成が進行している。その部では造骨細胞が規則正しく配列し破骨細胞も多数存在し毛細血管も多い。これに反し、接合悪く離断骨折片の介在せるものでは尚凝血塊が遺残し且つ鬱血の像が一部にみられるが、結合織の増生は可成り認められる。然し増殖結合織の類骨梁化及び外骨膜下の軟骨細胞化骨化の傾向は比較的微弱で軟骨細胞も未熟形が多く量的、質的にも修復機転の遅延が認められる。

B) Al-P-ase 反応

骨折端の骨質に沿ひ配列する造骨細胞は強陽性、破骨細胞は概ね中等度陽性、時に弱陽性を示す。新生内仮骨附近の間質に集合している造骨細胞様の細胞も中等度陽性、時に可成り強陽性を示す場合もある。軟骨細胞は幼若型、成熟型何れも中等度乃至強陽性であるが泡状化したものでは減弱して痕跡程度となる。しかし軟骨性仮骨形成部の軟骨細胞は陽性で、可成り石灰

沈着の進行した仮骨内に残存する軟骨細胞縁の配列する造骨細胞は陽性である。外骨膜最外層は陰性であるが内層に行くに従つて陽性度は高まり、軟骨化生の附近では可成り強度の陽性を示す。又結合織に於ては類骨梁組織を形成する部に於て中等度陽性を示す。

C) PAS 反応

中心部の軟骨基質の遺残部は強陽性、その他は弱陽性である。しかし骨折部に於て結合織の類骨組織に置換された部分は、H. E 染色で造骨細胞の配列が明確でなく骨質との境界不明瞭であるが、石灰沈着を来した仮骨はPAS陽性となるため、結合織成分と明瞭に區別出来る。造骨細胞は概ね陰性又は弱陽性であるが破骨細胞は何れも強又は中等度陽性である。軟骨細胞はその間質に強陽性、原形質も陽性、特に幼若型では原形質にも強陽性である。軟骨性仮骨形成部に於ても、軟骨基質遺残部又は軟骨細胞の周囲に強陽性で、かゝる仮骨は特に強く染つてみえる。間質結合織は弱乃至は中等度に陽性である。

D) メタクロマジー反応

イ) pH 2.5: 軟骨細胞特に泡状化したものにのみ強陽性で、比較的小型の幼若なものでは一定しない。又外骨膜に近く存在するところの形態上幼若な軟骨細胞は全く陰性で軟骨としての基質を備えて始めて陽性になる。又骨幹に近い仮骨形成の部では軟骨細胞の他に周囲基質部即ちPAS陽性部にも若干陽性の反応を呈する。その他骨質、造骨細胞、破骨細胞、骨膜、結合織等何れも陰性である。

ロ) pH 4.1: pH 2.5の場合と同様、軟骨細胞、軟骨基質にのみ陽性で、骨質、造骨細胞、破骨細胞、骨膜、結合織等何れも陰性である。但しこの場合、殆んどすべての細胞核がpH 2.5の場合に比し、稍紫色の色調を帯び且つ濃く染つている。しかしこれがメタクロマジー反応陽性であるか否かは俄かに判定し難い。

II) 骨折後2週

A) H. E 染色

外骨膜下には未だ可成りの軟骨細胞があり肉眼的にも強く膨隆しているが、骨幹部近くでは類骨梁組織の形成は可成り進行して居り軟骨細胞も1週後に比し少い。骨折端中央部に小骨片が介在しそれを取囲んで多数の好中球の浸潤がみられ感染の疑いのあるものがあったが、この場合類骨梁組織への置換は進行しておらず、結合織線維が主で毛細血管が可成り増加し且つ鬱血状態を呈し、いわゆる肉芽組織を形成している為、仮骨形成が著しく遅延していた。尚この肉芽組織は狭

い幅を以つて外骨膜に連続し、肥厚した外骨膜下に上記の小骨片周囲の結合組織層を介して遠近両骨折端には多数の軟骨細胞が存在しているが、骨幹に近い部分では泡状化し石灰沈着を来して軟骨性仮骨が形成されている。

B) Al-P-ase 反応

1 週後の所見と大差なく、骨折端附近の骨質に接した造骨細胞は強陽性で、破骨細胞も均一ではないが概ね陽性、外骨膜内層細胞、軟骨細胞は何れも陽性、特に骨幹側の仮骨形成部で軟骨細胞及び、恐らく造骨細胞へと移行すると考えられる間質の小橢円形細胞に強陽性である。

C) PAS 反応

骨質では中央部が中等度陽性、造骨細胞は概ね陰性であるが一部分に陽性、破骨細胞は中等度陽性である。小骨片を包む結合組織は中等度陽性であるが、これはその線維自身が陽性に染るものであつて骨質の染色とは明らかに区別するべきであろう。軟骨細胞は1週目と同様特に強陽性である。

D) メタクロマジー反応

pH 2.5, pH 4.1 共に軟骨細胞特に泡状化したものに強陽性で軟骨性仮骨の軟骨基質も陽性である。感染例では遠近両軟骨層の間に介在する結合組織にも軽度のメタクロマジー反応がみられる。pH 4.1では1週後と同様に軟骨細胞の他、一般の細胞核が稍紫色を帯びて染まる。

Ⅲ) 骨折後3週

A) H. E 染色

骨折端接合の良好な例では、骨折端部には増殖結合組織及び軟骨細胞は殆んどみられなくなり、軟骨性仮骨は略完成され一部ではすでに仮骨の吸収、新生骨への置換、即ち骨改造が進行して骨梁の規則正しい新生骨が整然と配列している。造骨細胞も規則正しく且つ均一に分布し、破骨細胞も多数存在し特に内方の仮骨縁に多い。然し内部骨髓腔は未だ完成されていない。骨折端転位の存するものでは、未だ若干の軟骨細胞が残存し、修復機転は稍遅延している。

B) Al-P-ase 反応

骨折端附近の造骨細胞に主として強陽性、破骨細胞は陽性若しくは弱陽性である。新生骨細胞は陽性で、仮骨内に残存する軟骨細胞に強陽性である。仮骨乃至は仮骨から骨新生部附近の間質細胞でも陽性である。

C) PAS 反応

接合部に若干残存する仮骨に於て斑状に強陽性で、その一部は2週と同様に軟骨基質の遺残と思われるが

大部分は新生骨質と推測される。造骨細胞は概ね陰性であるが骨質近くでは陽性と思われる細胞もある。破骨細胞は陽性、特に仮骨附近では強度の陽性を示すものがある。外骨膜も陽性である。

D) メタクロマジー反応

仮骨中に僅かに残る軟骨細胞及び一部の基質にのみ陽性で他は全く陰性である。既述の如く pH 4.1 の場合は pH 2.5 の場合に比して殆んどの細胞核が稍紫色を呈し、メタクロマジー反応に近い。

Ⅳ) 骨折後4週

A) H. E 染色

仮骨の吸収は著しく進行し、外側部に僅かに軟骨基質が残存している程度である。内部仮骨は殆ど吸収されて豊富な細血管がみられ大部分が疎性結合組織で置換され、骨髓腔の完成が近く、該部では多数の破骨細胞がみられ骨改造所見が著しい。転位のあつたものでは海綿状骨が稍多く軟骨基質の遺残も多い。即ち修復機転が稍遅延しているが、此の時期に到ると骨髓腔は殆んど完成し内部仮骨の吸収は接合良好な例よりもむしろ進行しているものもみられた。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞の呈する強陽性の反応が主で、その他新生骨細胞も陽性を示す。破骨細胞は造骨細胞程明確ではないが陽性を呈するものが多い。尚骨幹近くの新生骨髓腔の細胞にも若干陽性のものがみられる。

C) PAS 反応

PAS 反応陽性の軟骨基質の遺残は殆んど無く、濃染する骨質は大部少くなつてはいるが、なお一部に見られる。その他の所見は3週目と大差ない。

D) メタクロマジー反応

骨折転移の強かつたものに僅かに残る軟骨細胞及び基質に陽性であるのみで、他の細胞は全く陰性である。

第2項 骨端軟骨部の所見

骨端軟骨部の所見は骨折部が比較的離れているため同一動物4種の標本について略同様な所見を呈するので纏めて記述する。

A) H. E 染色

軟骨柱は静止層、柱状層、増殖層、成熟層、泡状層と概ね区別可能で、規則正しい配列を示すが、時には泡状層の長さ长短あるものや柱の走行が僅かに乱れているものがある。然し特に異常とは云えない程度である。泡状層に続いて予備石灰化層があるが、その境界部には血液を充した細血管が顕著にみられる。之れ

に続いて造骨細胞と少数の破骨細胞を含むところの原始骨梁に移行する。原始骨梁の骨質中央部に軟骨基質の遺残がみられるが軟骨細胞はない。間質結合織には毛細血管もみられる。即ち何れの標本に於ても骨形成の障害は特に認められない。

B) Al-P-ase 反応

静止層及び柱状層は陰性で時に痕跡程度に認められる事があるが、増殖層以下は陽性となり特に成熟層から泡状層にかけては強陽性で、間質の軟骨基質にも現われるが泡状層の末端では減弱する傾向がある。石灰沈着部は概して陰性であるが造骨細胞は強陽性で破骨細胞も弱乃至中等度陽性である。

C) PAS 反応

極めて特徴的で、軟骨静止層に接してその先端に位置する結合織は濃赤色に反応し、これに続いて軟骨柱の間質基質に陽性で予備石灰化層に続く。軟骨細胞自体は陰性であるが、その細胞膜に相当する部が陽性で、特に成熟層と泡状層との境界が明確なものが多い。石灰沈着層との間の毛細管部で減弱し、石灰沈着層以下骨質ではその中央に位置する軟骨基質の遺残部に相当して陽性であり、これは骨幹端部の骨質に迄みられるが該部では特に強く反応する。造骨細胞は陰性時に弱陽性であり、破骨細胞は陰性である。間質結合織も弱乃至は中等度陽性である。

D) メタクロマジー反応

pH 2.5に於ては静止層より泡状層に到る迄細胞内に陽性で石灰化層に接する部で減弱する。尚柱状層以下の基質も陽性で石灰化層下でも遺残軟骨基質は陽性であるが、その他の細胞、組織はすべて陰性である。pH 4.1でも同様であるがpH 2.5に比し他の組織の細胞核に紫色の色調が濃い。

第4節 40mg 投与群における組織学的並に組織化学的所見

第1項 骨折部の所見

I) 骨折後1週

A) H. E 染色

内外骨膜性に軟骨化生が著しく、結合織細胞成分は遙かに少い。殊に外骨膜性に強く、骨折部は著しく膨隆している。外骨膜性の軟骨細胞は泡状化したものが多いが、その中に小型の幼若型が散在したり、結合織成分の近くに泡状のものが存在してその成熟過程に均一性を欠く。骨幹側では一部石灰沈着を来し、海綿状骨梁を形成しているが、軟骨細胞と骨質との置換が不

均一で仮骨の深部にも軟骨細胞が殆んど成熟せずに残存する部分が少くない。又仮骨そのものの構造が或いは密に或いは疎に著しく均一性を欠く。造骨細胞の配列も不整である。破骨細胞は可成り存在する。内骨膜性の軟骨細胞は不整のものが多く、外側方では泡状化しているが、その他の部分に泡状化しない儘で石灰沈着の像を呈するものがみられた。

B) Al-P-ase 反応

骨折端附近の造骨細胞に強陽性であり、特に直接化生による結合織に接する骨質に分布した細胞に著しい。軟骨細胞の陽性度は一定して居らず骨幹部に近い内外骨膜性細胞の仮骨形成部では強陽性のもの、或いは極めて活性度の低いもの等が混在して甚だ均一性を欠いている。仮骨附近の破骨細胞は陰性のものが多い。遺残した軟骨細胞及び幼若骨細胞は陽性を呈するが、海綿状骨梁に於ける軟骨細胞、骨細胞は著しく強陽性のもの及び殆んど陰性のものもあり一定していない。

C) PAS 反応

対照群と著変なく骨梁中心部に陽性、内外骨膜性軟骨は何れも強陽性で、主として細胞外の基質に強陽性である。直接化生による石灰沈着部に強陽性であるが造骨細胞自体は陰性、破骨細胞は中等度陽性である。外骨膜、結合織、血管内皮質も中等度に陽性を示す。

D) メタクロマジー反応

対照群と同様、軟骨に関係してのみ陽性で、内外骨膜性軟骨細胞に於て細胞内に強陽性である。仮骨内に陽性を示す軟骨細胞が不均一に混在しているが軟骨基質は陰性である。

II) 骨折後2週

A) H. E 染色

内外骨膜性仮骨に豊富な軟骨細胞の化生があり殊に外部への膨隆は著しいが、間質結合織の發育は著しく不整で、外骨膜下にも石灰沈着層がみられる。然し骨幹側に於ては泡状化による石灰沈着も認められる。即ち全体として石灰沈着の状態は対照群に比し著しく不整で、或る部では複雑な海綿状骨梁の構造に移行し、この仮骨は間質結合織の細胞乃至は造骨細胞の配列も極めて不規則で、この細胞と無関係に軟骨細胞に石灰が沈着し、或いは骨幹側に長く伸びた骨梁の先の方に軟骨細胞が遺残している。又一部では海綿状骨梁としての構造をとらず、軟骨細胞集合部にその儘急速な石灰沈着を来した観を呈するものもある。内骨膜性軟骨

は一般に小型で充分泡状化しない儘、石灰沈着が一部に行われている。

B) Al-P-ase 反応

1週後と同様、骨折部は造骨細胞に強陽性で、軟骨細胞は種々の程度に陽性である。海綿状骨梁の部も著しく強度に陽性のものと、殆ど陰性のものが不規則に混在している。

C) PAS 反応

軟骨細胞は主に細胞外性に強度に陽性で、海綿状構造をとる軟骨性仮骨も概して陽性、特に散在する軟骨基質の遺残部は強陽性である。この他、H. E 染色では結合織との区別が不明瞭な石灰沈着部に強陽性で、PAS 反応により弱乃至中等度陽性の結合織との判別可能であるが、この石灰沈着部の分布、程度が極めて不整である。破骨細胞は陽性を呈する。

D) メタクロマジー反応

pH 2.5もpH 4.1も略同様の所見で、骨折端や外骨膜下に存在する軟骨細胞のみ強陽性である。海綿状骨梁の深部に反応陽性の軟骨細胞の残存している事がメタクロマジー反応で明瞭に看取され、その存在は極めて不均一である。

II) 骨折後3週

A) H. E 染色

骨折後2週迄にみられた豊富な軟骨細胞は著しく減少している。内骨膜性仮骨は若干の軟骨基質の遺残を持つたまま吸収され、疎性結合織に置換される傾向が強く、一部に脂肪髄がみられる。外骨膜下には不規則な海面状構造をした軟骨性仮骨が処々に存在し、その骨質には軟骨細胞が原型を留めた儘多数みられ、且つその基質の遺残も著明に認められるが、骨幹側では仮骨と置換して生じた新生骨も多く、軟骨細胞の消失置換と骨新生の二つの過程がアンバランスに行われている傾向が強くみられる。間質結合織も著しく不整で、密に結合織の發育した部や極めて疎な部分があり造骨細胞の配列も不整である。破骨細胞も可成りみられる。尚、骨髓腔、毛細血管が内部の仮骨間質に浸入し盛んに仮骨が吸収されている所見もみられる。又一部のものでは外骨膜下の仮骨が高度に発達しているものもみられた。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞は概して強陽性で内仮骨に由来する幼若骨細胞は中等度に陽性で、骨折端にみられる軟骨細胞は陽性を呈する。外仮骨に於ても遺残軟骨細胞の一部に強陽性を示すものもあり、Al-P-ase 反応の不均一性

が認められる。破骨細胞は既に化骨した部では弱陽性乃至陰性である。

C) PAS 反応

正常骨質は弱陽性であるが、仮骨に於ては強弱種々の染色性を示し、特に軟骨との関係の近いものは強陽性である。即ち骨折端に遺残した軟骨細胞間質及びそれに連る化骨は連続性に強陽性で、外骨膜下でも軟骨構造の若干残っている部分、その周囲仮骨は強陽性である。間質結合織は弱陽性、殊に仮骨の吸収が行われている部分では中等度の陽性を示す。破骨細胞は一般に陽性のものが多い。血管壁は中等度に陽性である。

D) メタクロマジー反応

所々に散在する軟骨細胞に陽性、その他軟骨基質にも細胞外性に中等度陽性にみられる。pH 4.1では核の染色が稍異なるのも他の例と同様である。即ち染色性に關する限りでは対照群と差がない。

IV) 骨折後4週

A) H. E 染色

内仮骨に僅かの軟骨成分が遺残しているものもあるが、多くは殆んど吸収され、中心部では上下の骨髓腔が完全に連絡し、細血管の豊富な脂肪織性の疎性結合織で置換されている。しかし外仮骨の吸収置換は稍遅延し、軟骨性仮骨による膨隆が尚見られ、且つ軟骨基質の遺残が少くない。特に一部外骨膜直下に石灰沈着も起さず通常2~3週にみられる様な軟骨細胞の遺残を骨梁中にみるものもあつた。又不整な海綿状仮骨も可成りみられ、その骨幹側では石灰沈着はみられるが概して泡状化不全の未熟型の軟骨細胞である。附近の仮骨では一般に造骨細胞の配列が不均一である。破骨細胞は可成りみられる。即ち4週後に於て、内仮骨の吸収、骨髓腔への置換は可成り行われていても、外仮骨其の骨質性仮骨の吸収は対照群に比し著しく遅延し、特に軟骨自身については量的には対照群に比し強度に形成されているが、質的に軟骨成分を多量に含んだ稍不全な骨修復状況がうかがわれる。

B) Al-P-ase 反応

骨質に沿う造骨細胞は強陽性、遺残軟骨細胞にも中等度陽性である。外仮骨の海綿状骨梁が出来つつある部では造骨細胞は強陽性のもの或いは弱陽性のものが混在して居り、これらの部では破骨細胞は大體陰性を示している。

C) PAS 反応

正常骨質は中等度乃至弱陽性で、仮骨は強弱種々の程度に不規則に陽性、特に軟骨基質の遺残部に強陽性

である。上下交通した骨髓腔に島嶼状に残存する仮骨は他の仮骨に比して稍反応が弱く、斑状に中等度の陽性を示す。附近に多数集合する破骨細胞は何れも中等度に陽性である。骨髓腔の結合組織は弱陽性であるが、吸収されつつある内仮骨に接する部では中等度に陽性である。

D) メタクロマジー反応

軟骨細胞に関してのみpH 2.5, pH 4.1で陽性であるが、外骨膜下に本反応陽性の軟骨細胞が密集しているものもみられた。その他、仮骨内にも陽性の軟骨細胞や或いは軟骨基質が散在しているのが特徴的であり、これらの反応は量的に对照群に比し著しく多い。

第2項 骨端軟骨部の所見

A) H. E 染色

对照群に比して特徴的である。即ち何れの例でも軟骨層各部の走行が乱れ且つ長さが著しく不整で、長短凸凹が著しい傾向が明かに看取される。長い軟骨柱は短いものの約3倍の長さを示すものもみられた。又層状構成も不整で静止層、柱状層は一般に短かいが、成熟層、泡状層は特に変化が強く軟骨層全体の長短は主としてこの2層の変化による。即ち概して泡状層の細胞が小さく、成熟層細胞との境界が不明瞭であり、或る柱では定型的な泡状層をみず成熟層細胞の稍肥大したものが直接不整な予備石灰化層へ移行したり、或は両層の移行型もしくは泡状層が著しく延長し、部分的にはその途中で1乃至数个の細胞がエオジンに染つて石灰沈着をみるものもある。これらの著しく延長した柱の先端、石灰化層との境界部にも毛細管の發育が不十分なものが少くないが、これと全く逆に石灰沈着の次に肥大した泡状層の配列をみるものもあつた。予備石灰化層乃至は原始骨梁に於ける造骨細胞の配列及び骨質の沈着は極めて不整で、この部分で過度の石灰沈着を示すものや、軟骨細胞が異常に豊富に残存しているものもみられる。然し一部に過度の石灰沈着を来し一定幅の軟骨遺残の全く見られないものも多い。

B) Al-P-ase 反応

増殖層以下に陽性で特に成熟層以下に強陽性であるが、对照群に比し稍減少し、且つ強弱種々の不均一性を示す傾向が窺われる。予備石灰化層乃至は原始骨梁の軟骨も陽性、又間質も弱陽性を示す。破骨細胞は一定しないで陰性のものも多い。

C) PAS 反応

極めて特徴的であり、軟骨柱を包む結合組織に強陽性で、続いて間質基質に陽性である。軟骨細胞自身は概

ね陰性であるが、細胞膜に相当する部は陽性である。然し乍ら对照群にみられた様な成熟層と泡状層の判然とした境界はなく、不明瞭なまゝ移行し、これが著しく遅延したり、長短不整を示したりする事によつて軟骨柱長の不均一が明かである。軟骨柱先端の毛細血管の増生部で減弱し、予備石灰化層の間質に強陽性に続いている。原始骨梁以下では稍減弱し骨質中央に中等度に断続して陽性である。

D) メタクロマジー反応

軟骨細胞全体に、静止層から泡状層に互り細胞内に強陽性で泡状層の先端では時に減弱する。間質に於ても柱状層以下で陽性のものが多い。このメタクロマジー陽性の軟骨柱が对照群に比し極めて不整で長短種々に凸凹を以てみられる。予備石灰化層以下一定の長さには互り反応は全く消失し、以後再び骨質中央に一斉に出現している。この陰性の部分にも軟骨細胞が原型のまゝ陽性にみられるのも少くない。而してこの一定の部分に軟骨基質の遺残が全くみられず軟骨細胞がそのまゝ原始骨梁に残っている事は注目すべき所見である。

第5節 20mg 投与群に於ける組織学的並に組織化学的所見

第1項 骨折部の所見

I) 骨折後1週

A) H. E 染色

骨折端接合不良例では、骨折端は外骨膜から連続的に索状にのびた結合組織で境されている。遠位側には多数の外骨膜性軟骨が増生し、結合組織を隔てて内骨膜性仮骨がみられるが、近位側では殆んど軟骨細胞の増生はみられず結合組織のみである。骨折端接合の比較的良好なものでは外骨膜性に軟骨及び結合組織が増殖し肉眼的にも膨隆している。外骨膜性軟骨の一部は泡状化し石灰沈着を来し海綿状骨梁を形成しているが、仮骨形成は不均一である。内骨膜性には泡状化は不充分的で石灰沈着をおこし海綿状構造はとらない。外骨膜性仮骨形成は高度であるが骨幹近くでもなお軟骨細胞をその骨質内にみる。又軟骨部と海綿状骨梁との境界附近では間質に血管の増生が著しく且つ鬱血性である。破骨細胞は仮骨部に多数みられる。

B) Al-P-ase 反応

骨折端附近の増骨細胞は一般に強陽性である。軟骨細胞は強弱種々の程度に混じている。軟骨性仮骨の膨隆した細胞及び遺残軟骨細胞に陽性であるが、これも均一性を欠く傾向がみられる。破骨細胞は弱陽性又は

陰性である。

C) PAS 反応

軟骨細胞基質は強陽性、その他 PAS 陽性の外骨膜から骨折部に延びた結合繊も強陽性で特に石灰沈着部に強度である。破骨細胞も陽性を示す。

D) メタクロマジー反応

pH 2.5 及び pH 4.1 共に軟骨細胞にのみ陽性でその分布は極めて明確である。仮骨部でも軟骨細胞内のみに陽性で軟骨基質は陰性である。

II) 骨折後 2 週

A) H. E 染色

内外骨膜性に多数の軟骨細胞がみられるがその分布は極めて不均一で、密に軟骨細胞が集合して充分泡状化しない儘で残っている部分、或いは泡状化して豊富な海綿状骨梁を形成している部分もある。この骨梁構造も不整で狭い幅の骨梁が複雑に屈曲して種々の程度の間質結合繊を含むものや、広く石灰沈着を来して間質が殆んどみられないものがあり、その中に泡状化しないままで軟骨細胞が存在しているものもあつた。破骨細胞も多数みられる部分や疎な部分もあり一定しない。

B) Al-P-ase 反応

骨折部の骨質に沿う造骨細胞に強陽性で軟骨細胞も陽性のものが多いが、泡状化したものはむしろ減弱し、骨梁形成の始まる部で特に増強する傾向があるが、その程度が不均一である。骨細胞の幼若なものはすべて陽性を呈する。

C) PAS 反応

軟骨細胞群の細胞外性に特に陽性で、結合繊の石灰沈着部、仮骨中に残存する軟骨基質が特に陽性、破骨細胞も中等度陽性である。

D) メタクロマジー反応

軟骨細胞に陽性で仮骨内に残存する軟骨が明瞭に陽性を呈し、その位置が明瞭である。

III) 骨折後 3 週

A) H. E 染色

内仮骨は破骨細胞を多数に有し、毛細血管の豊富な骨髓腔の結合繊と置換されつつある。然しその仮骨内には未だ若干の軟骨基質を包含して居り、均等な石灰沈着状態ではない。外仮骨形成は骨折転位が同じ程度でも動物に依つて可成りの差がみとめられるが、過剰なものでは軟骨細胞及び軟骨基質の仮骨内遺残の程度が強い。

B) Al-P-ase 反応

一般に造骨細胞は強陽性、軟骨細胞も陽性であるが、その活性度は不均一である。仮骨における骨細胞も陽性であるが、複雑な海綿状構造をとる部における破骨細胞は陰性のものが少くない。

C) PAS 反応

外仮骨に於ける軟骨基質が鮮鋭に強陽性であり、此等仮骨は軟骨成分以外に不均一に濃淡の混じた反応を呈するものがみられた。その他、破骨細胞、内腔結合繊で仮骨に接する部、血管内皮に陽性である事は他の例と同様である。

D) メタクロマジー反応

仮骨内に於ける軟骨細胞は 2 週後の所見に比し可成り減少して居るが、反応陽性の軟骨基質が相当残存している。

IV) 骨折後 4 週

A) H. E 染色

内仮骨は殆んど吸収されて脂肪性結合繊に置換され、骨髓腔は殆んど完成しているが、腔内に僅かに骨質のみられるものもある。外仮骨もよく接合し、正常骨への置換も進行している。なお仮骨内に軟骨基質の遺残が多少みられるが 40mg 投与群程顕著ではない。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞に強陽性、軟骨性仮骨の膨大した細胞に陽性破骨細胞は不定である。

C) PAS 反応

仮骨における軟骨基質が強陽性であるが、これは骨髓腔に近く早晚吸収置換される仮骨にもみられる。尚この附近の骨髓腔結合繊は他の部のそれに比し反応が稍強い。

D) メタクロマジー反応

仮骨内に反応陽性の軟骨細胞及び基質が混在している他、すべての細胞に陰性である。

第 2 項 骨端軟骨部の所見

A) H. E 染色

軟骨柱の長さ及び配列は種々の程度に乱れ、不規則であるが 40mg 投与群程顕著ではない。然し胞状層細胞の泡状化が不完全で成熟層細胞との中間移行型のまゝ予備石灰化層に移行し、その為成熟層との区別が判然としないものが多い。不整な泡状層が長く、他の軟骨層の占める長さ、比が著しく減少しているものもみられた。又予備石灰化層乃至は原始骨梁に於て造骨細胞の発育が一般に不整で化骨不全の状態である。軟骨基質の遺残は殆んど連続的にみられる外、軟骨細胞そのものも混在している。

B) Al-P-ase 反応

一般に増殖層以下の軟骨細胞に陽性であり泡状層の先端で減弱する。又泡状層の細胞全く陰性のものもある。原始骨梁では造骨、破骨細胞共に陽性で、時に陽性を呈する軟骨細胞を混じている。

C) PAS 反応

質的には対照群同様軟骨間質に陽性である。その形態、分布は 40mg 投与群程不規則ではない。又泡状層と成熟層との区別が対照群程明確ではない。予備石灰化層でも軟骨基質が陽性を示す。

D) メタクロマジー反応

軟骨細胞全体に強陽性である。予備石灰化層以下の軟骨基質にも陽性であるが、その配列が乱れている。pH 4.1 では各種の細胞核が稍紫色の色調を帯びている。一般に軟骨に関連した細胞以外はすべて陰性である。

第6節 10mg 投与群の組織学的並びに組織化学的所見**第1項 骨折部の所見****I) 骨折後1週****A) H. E 染色**

外骨膜性軟骨の化生が強し、その為著しく膨隆している。外骨膜は肥厚し、その結合織は一部骨折端迄伸びているが、その程度は比較的軽度で、軟骨細胞の増生が著しい。これら軟骨細胞は泡状化し、骨幹側に海綿状構造の類骨梁仮骨を形成しており、多量投与群のそれに比して均一性があり、略全体に時期を等しくして仮骨形成が行われている。しかしてその仮骨の成分は不整で深部、骨幹側近くでも中に軟骨細胞を含んでいる。骨折端に変質した遊離骨片を有するものではこれを包んで、小型の内骨膜性軟骨がみられた。又結合織の増殖が比較的多いものもあつたが全体として軟骨性仮骨が主である。

B) Al-P-ase 反応

骨質に沿う造骨細胞は概ね強陽性、軟骨細胞は陽性のものが多いが、その泡状化しつつあるもの、或いは石灰沈着を来す部分に強弱不均一性がみられる。しかし多量投与群程顕著でなく、又仮骨内で陽性の軟骨細胞は少い。破骨細胞は陰性のものが少くない。

C) PAS 反応

軟骨基質を主とする PAS 反応強陽性部位は既述の標本のそれと殆ど同一で、特記すべきものはないが、仮骨内に於ける軟骨基質は中等量みられる。

D) メタクロマジー反応

軟骨細胞に関係してのみ陽性で、内外両骨膜性に何

れも強陽性にみられ、仮骨内にも若干存在し、又一部には基質の陽性部もみられた。

II) 骨折後2週**A) H. E 染色**

骨折片接合良好なものでは、内仮骨は既に大部分吸収され、疎性結合織への置換が進行して居り、破骨細胞も多い。然し外骨膜直下に小骨片のみられたものでは、その部に結合織の増殖が強し仮骨形成が遅れている。軟骨性仮骨の形成部には軟骨細胞の集団は少いが、その仮骨は不整で間質が多く、非連続性に小骨梁の集合の如き観を与える部や、幅の厚い骨梁の部もある。又軟骨細胞も骨質内に若干残り破骨細胞も過度に多い。骨折転位のあるものでは外仮骨の形成が過度でしかも仮骨から正常骨質への置換が遅れ多量の海綿状骨梁をみる。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞に強陽性、一部の軟骨細胞にも強陽性にみられるが、仮骨形成部に於ては不均一な反応を示して、破骨細胞も陰性のものが少くない。これに比し内仮骨性の破骨細胞には陽性のものも多い。

C) PAS 反応、メタクロマジー反応

特記すべき所見はない。多量投与群の如き集団的な軟骨細胞及び仮骨内における軟骨細胞のメタクロマジー反応領域は少いが、PAS 反応陽性の軟骨基質の遺残は少くない。

III) 骨折後3週

骨折端接合良好なものでは、仮骨の形成も少く内仮骨の吸収は可成り進行している。然し外骨膜が強度に肥厚し、一部極めて幼若な小型の軟骨細胞の認められるものがあつた。又部分的に結合織増殖、仮骨の過度の吸収像のみられたものもある。仮骨内に於ける軟骨細胞の遺残は少いが、軟骨基質はかなりみられ、一部では骨梁の外側部のみ僅かに石灰沈着があり大部分が軟骨成分である様な所見が、可成り仮骨形成の進行した部分にも見られる。接合稍不良なものでは結合織及び軟骨性仮骨が稍多い傾向がみられるが、内仮骨の吸収は可成り進行している。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞及び軟骨細胞の多くのものに陽性、殊に仮骨が形成されつつある部分では特に強陽性の細胞が多いが、破骨細胞は此の部分に於ては陰性のものが可成り多くみられる。

C) PAS 反応

軟骨基質、石灰沈着部位、肥厚した外骨膜、破骨細胞

胞に強陽性で特に著変はない。

D) メタクロマジー反応

軟骨細胞に関して陽性であるが、外骨膜直下の軟骨細胞は弱陽性を示し、一部仮骨内にみられる軟骨基質にも陽性を呈するものがみられる。

IV) 骨折後4週

A) H. E 染色

内仮骨は殆んど吸収されて骨髓腔は交通しているが僅かに数々の仮骨片が島嶼状に残存しているものも多い。外骨膜は一部肥厚し結合組織が若干増殖している。外仮骨の正常骨への置換も進行しているが、一部に軟骨基質を含む仮骨が海綿状骨梁を存したまま残っており、軟骨成分の比較的多いものも1例みられた。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞は陽性であるが破骨細胞は一般に活性度が弱い。陽性の軟骨細胞は極めて少い。

C) PAS 反応

外仮骨に遺残した軟骨基質が強陽性且つ鮮鋭な染色性を示す。その他破骨細胞、一部の結合組織、特に内仮骨の吸収置換部で中等度に陽性である。

D) メタクロマジー反応

僅かに残る軟骨細胞及び一部基質が陽性で他は全く陰性である。

第2項 骨端軟骨部の所見

僅かに泡状層の形が小さく且つ不整なもの、或いは石灰沈着過度の傾向が窺われるが、多量投与群程顕著ではなく、各種染色標本に於て対照群と比較して特記すべき差は認め得ない。

第7節 5mg投与群における組織学的並に組織化学的所見

第1項 骨折部の所見

I) 骨折後1週

A) H. E 染色

骨折端に若干のずれのあるものでは、外骨膜から連続性に結合組織が延長して骨折端をつないでいる所見がみられる。外骨膜性の軟骨化生は強くみられ、それらは既に泡状化しはじめ骨幹側に於ては海綿状骨梁を形成している。この類骨梁組織の形成は略均等に行われ略均一に造骨細胞で包まれ、正常骨梁への置換も順調に進んでいる。仮骨内に軟骨細胞及び基質がみられるが比較的少い。内骨膜性の軟骨も多数みられるが骨質への置換の傾向の比較強いものも認められた。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞は強陽性、軟骨細胞は特に仮骨部で強陽性

新生仮骨の膨隆した細胞(軟骨細胞も含まれる)、に強又は中等度に陽性である。破骨細胞は陰性のものが少ない。

C) PAS 反応

軟骨基質に強陽性、その他破骨細胞、増殖した結合組織、外骨膜に陽性である。

D) メタクロマジー反応

外骨膜下にみられる多量の軟骨細胞、及び骨折端にみられる少量の軟骨細胞に強陽性に認められる。又外仮骨内に散在する軟骨細胞及び基質が陽性でその他すべての細胞に陰性である。

II) 骨折後2週

A) H. E 染色

外骨膜性軟骨細胞の化生が比較的高度で、一部は連続性に内部に延長し内骨膜と連絡しているものもある。内骨膜性仮骨も軽度に認められる。骨幹外側には軟骨性仮骨が高度に形成されているが、不均一性は著明でなく、対照群と大差はない。唯仮骨内軟骨基質の遺残が可成り強い。その他、直接化生の像も可成りみとめられる。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞に強陽性、膨大した軟骨細胞にも強陽性で又仮骨の細胞にも強陽性を呈するものがみられる。それらの分布に多少の不均一性はあるが対照群と大差はない。破骨細胞は中等度に陽性、時に弱陽性である。

C) PAS 反応

軟骨基質、破骨細胞其の他、染色反応に対照群と質的な差は認められない。

D) メタクロマジー反応

内外骨膜よりの軟骨細胞に鮮明に陽性、その他仮骨内の軟骨細胞及び基質にも陽性で其れ以外はすべて陰性である。

III) 骨折後3週

A) H. E 染色

外仮骨には可成りの軟骨基質がみられ正常骨質への置換が稍遅れているが、内仮骨の吸収は可成り進行している。然し骨髓腔は未だ完成されておらず、非常に大型の破骨細胞が一部に集合し骨質が吸収されて細血管及び脂肪組織に置換されているものもみられた。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞に強陽性、軟骨細胞の集団は既に吸収置換されているが、石灰沈着を起しつつある部分の軟骨細胞は強陽性で、これは不規則、不均一とは云えない。破骨細胞は中等度陽性のものが可成り多い。

C) PAS 反応

軟骨基質、その他陽性部は質的には対照群と変らず、量的に軟骨基質が仮骨内に稍多くみられる程度である。

D) メタクロマジー反応

陽性の細胞も少く、軟骨基質が散在性にみられるのみで、他の細胞は全く陰性である。

IV) 骨折後4週

A) H. E 染色

仮骨の形成稍不整なものもみられるが、仮骨及び新生骨への置換は略均一に、且つ規則正しく行われ、外仮骨に軽度の軟骨基質をみる他対照群と著しい差はない。唯、一部に内外仮骨の吸収、新生骨質への置換の稍おこなっているものもあつたが、これらは転位の影響と考えられる。

B) Al-P-ase 反応

造骨細胞に強陽性、破骨細胞にも中等度陽性のものがみられた。Al-P-ase 陽性の軟骨細胞は殆んど認められなくなつて居る。これらの所見は対照群との間に著しい差はない。

C) PAS 反応

外仮骨に於ける軟骨基質が明瞭に強陽性で破骨細胞が中等度陽性、造骨細胞が弱陽性を示している。

D) メタクロマジー反応

外仮骨中に残る軟骨基質及び少数の軟骨細胞にのみ陽性で他は全く陰性である。

第2項 骨端軟骨部の所見

H. E 染色所見で対照群と差を認めず、時に軟骨柱に軽度の長短の差、或いは原始骨梁の配列の乱れが僅かにみられるものもあるが、殆んど正常範囲内の変化とみるべきで、各種組織化学的染色法によつても多量投与群における如き著明な所見は認められなかつた。

第8節 弗素投与群における骨変化の小括

実験的骨折に於ては、出血其の他の循環障害は1~2週で略消失し、修復過程としては先づ内外骨膜が増殖し、増殖結合織は一部で類骨組織梁を形成し、次第に網状化すると同時に石灰沈着を来す。2~3週頃より新生骨梁に置換されてくるが、他方骨折端内外骨膜下の軟骨内化骨現象によつて、骨梁を形成してくるものと、この2様の化骨現象がみられる。この様にして増殖結合織は軟骨細胞に、更に軟骨組織は梁状骨組織に置換されてくるに従い、増殖結合織の範囲、次いで軟骨組織の占める領域が次第に減少になり、第4週後には此等の仮骨は殆んど梁化し尽す。此等の仮骨形成過

程は弗素多量投与群でもよく行われ、時には過剰の仮骨形成を来す傾向もみられるが、質的には対照群と比較して著しい差を認める。

然し乍ら骨折治癒過程の量的或いは時期的な差は、弗素の影響以外に骨折部の位置的関係、転位の程度、感染等に影響されるところが大きく、これらの二次的要素が加わる時は、弗素投与量に関係なく、異物性或は異常可動性の刺激により強く反応し、一部仮骨の形成過剰、吸収、新生骨梁への置換の遅延或いは骨修復の不均一性がみとめられる事がある。

従つて此等の2次的要素を除外し得ると考えられる例について特に検索した結果より案ずれば、修復過程に対する弗素の影響は質的に可成り著明なものがみられる。即ち、外骨膜下に生じた軟骨細胞は骨幹側に於て泡状化し、こゝに類骨組織梁を形成するが、この泡状化の程度が同一の場所に於ても種々雑多で且つ又、Al-P-ase 反応も著しい不均一性を示す。特に対照群では類骨梁形成時期には、Al-P-ase は一般に著しく増強するが、多量投与群(20mg~40mg)ではその活性度に著しいむらがあり、殆んど活性を示さない部分もある。又この海綿状の類骨梁形成の進行が場所によつて著しく遅速がある。即ち一部に於ては対照群に比して著しく、且つ大量に石灰沈着を来す部分がみられる反面、未だ大量の軟骨細胞及び基質が遺残している部分もあり、対照群で略均等に石灰沈着が行われるのと比較して著明な差が認められる。又対照群では骨幹に近い部分より順次化骨してゆく傾向があるが、弗素投与群では可成り陳旧の骨幹に近い部に於ても、Al-P-ase 陽性の軟骨細胞、或いは軟骨基質を包含しており、これはPAS染色或いはメタクロマジー反応でも鮮明に対照群との間に差がみとめられる。又骨折後4~5週で内仮骨が殆んど吸収され、外仮骨の新生骨置換が起るべき時期に於ても尚お外仮骨にPAS及びメタクロマジー反応陽性の軟骨細胞及び基質が認められ、著しいものでは軟骨細胞の集団を骨膜下にみる例もあり、この様な所見は特に多量投与群に著しい。しかも此の様な例に於ても、部分的には対照群に比し著しく強力な新生骨梁を3週頃より形成しているものもあり石灰沈着現象そのものに不均一性のある事を示す。即ち一部では石灰沈着が促進されているに拘らず一部に於ては大量の軟骨遺残をみる如き、骨折修復過程の不均一性を如実に示している。又Al-P-ase反応は造骨細胞では殆んど全部強陽性を示し、破骨細胞は対照群では中等度乃至弱陽性のものが可成りみられる

に反し、弗素投与群では一般に減少し、陰性を示すものが比較的多くみられる。特に多量投与群ではこの傾向が強いが、PAS 反応は略一様に陽性を示す。又内仮骨は対照群と略同様に1~2週後より軟骨内化骨がおこり、3~4週で吸収置換されて骨髓腔を完成し、投与群との間に顕著な差は認められないが、軟骨内化骨の不均一性を示す傾向が、多量投与群に於てみとめられる。

骨端軟骨部に於ては、弗素投与群では軟骨細胞柱の走行の乱れがみられ、成熟層と泡状層の移行が不明確になり、且つ、この長さが不規則に著しく延長し、Al-P-ase 反応も不整となる。更に予備石灰化層、乃至は原始骨梁の可成り深部に於て数ヶの軟骨細胞が未熟型のまゝ残存し、メタクロマジー反応強陽性を示しているものもみられた。又 PAS 反応でも軟骨層間質の強陽性部が長く骨梁に延長し、原始骨梁の中央に一定の所で断続してみられる傾向がある。

上述の諸変化は多量投与群に著明で10mg/kg 以下の投与群では対照と著しい差を見出し得ないものもある。

第9節主要臓器の所見

第1項 対照群

1) H. E 染色

肝臓に於いて中心静脈に鬱血をみるもの、肝細胞に若干空胞をみるものもあるが特に異常所見は認められない。又淋巴腺の洞内に少数乍らプラズマ細胞を認め、副腎皮質の細胞索間に稍鬱血をみたものもあるが栓塞死によるもので正常範囲の変化と考えられる。

2) Al-P-ase 反応

a 肝臓：肝細胞では中心部及び周辺部の細胞に僅かに限局して陽性、主として細胞境界部に存在する。Kupfer 氏星細胞、胆管上皮細胞は一般に陰性で、血管内皮細胞に時に陽性にみる。核はすべて陰性である。

b 腎臓：主として皮質細血管の主管上皮に強陽性、時に介在部に陽性の部もみられるが一定しない。Hendley 氏管及び集合管は陰性で髓質も陰性、マルピギー氏管では細尿管内皮細胞、糸球体、ボウマン氏囊何れも陰性である。これらの分布は何れも微細顆粒状に原形質内にみられ核は陰性である。

c 脾臓：白色髓の淋巴濾胞、特にその胚芽中心の細胞に陽性に見られる。しかし、これが淋巴球か或いは淋巴芽細胞であるかは明確でない。又細血管にも陽性である。赤色髓では一般に陰性で、中に大型の陽性細胞がみられるがその種類は判然としない。

d 淋巴腺：皮質濾胞の細胞に陽性、髓質の細胞では散在性に陽性で、洞では陰性である。

e 副腎：Zona glomerulosa に稍強度に陽性で Zona fasciculata 下部から interlocking zone に陽性である。髓質は一般に陰性である。

第2項 40mg/kg 投与群

1) H. E 染色

a 肝臓：周辺性及び中心性に強度の空胞形成のみられるものがあつた。然しズダンⅢによる脂肪染色は殆んど陰性である事から之は脂肪変性によるものでなく単なる空胞変性と判定し得た。Kupfer 氏星細胞は稍肥大しているものも時にみられる。

b 腎臓：皮質に於ては細尿管特にその主管部に変化がみられる。即ち濁腫腫脹、核の消失或は空胞変性を来し、一部刷子縁が消失し、主管本来の構造を失つている部がみられる。又腎小体は腫大或は殆んど消失しヒアリン様物質をみるものがある。下部細尿管及び髓質では集合管に空胞変性をみる。

c 脾臓：多少の鬱血あり、洞開大し又細網細胞の肥大をみるが著変は認められない。

d 淋巴腺：皮質部胚芽中心の発育不全が時に認められ、洞が稍開大し細網細胞の増殖がみられ、若干のプラズマ細胞をみる。

e 副腎：Zona glomerulosa の細胞が萎縮性で一部の Zona fasciculata で稍肥大の傾向をみる。

2) Al-P-ase 反応

a 肝臓：肝細胞全般に強陽性であるが、中心性に稍増強している。

b 腎臓：対照群と略同様の分布を以て陽性であるが全体として活性度が稍減弱している傾向がみられる。

c 脾臓：著変を認めず、胚芽中心の細胞に陽性度が高い。

d 淋巴腺：皮質の胚芽中心の細胞に於ける活性度が著減し、逆に洞及び髓索の細胞組織に陽性である。

e 副腎：Zona glomerulosa の活性度が軽度には減弱しているものが時に認められた。

第3項 20mg/kg 投与群

1) H. F 染色

a 肝臓：固有の肝細胞索の構造が乱れているものあり個々の肝細胞の変性をみるものがある。又中心性空胞変性を示すものも認められた。

b 腎臓：細尿管の空胞変性、濁腫腫脹をみるが、腎小体には著変をみない。

c 脾臓：鬱血あり、赤色髓ではエオジン嗜好細胞が

稍多い。

d 淋巴腺濾胞が稍萎縮性である。

e 副腎：Zona glomerulosa に若干鬱血を認めるものがある他、著変を認めない。

2) Al-P-ase 反応

a 肝臓：略全体に肝細胞特にその細胞膜に近く弱陽性、周辺部に稍強度である。

b 腎臓：分布が稍不均等で主管でも陰性のものを混じている。一般に皮質から髓質への移行部の細尿管に活性度が稍強い。

c 脾臓：著変なし。

d 淋巴腺：濾胞の胚芽中心における活性度が減弱している。

b 副腎：Zona glomerulosa に強陽性であるが一般に活性度は低下している。

第4項 10mg/kg 投与群

1) H. E 染色

a 肝臓：肝細胞索乱れ肝細胞は稍膨大している。

b 腎臓：主管の空胞変性、一部核消失を認めるが瀾濁腫脹軽度である。

c 脾臓：軽度の細網細胞の増殖、鬱血の他著変を認めない。

d 淋巴腺：濾胞中心の軽度の萎縮をみる。

e 副腎：著変なし。

2) Al-P-ase 反応

a 肝臓：中心性及び周辺性に稍増強し、その分布が稍広くなっている。

b 腎臓：皮質表層では稍減弱し、移行部では相対的に増強している。

c 脾臓：肝芽中心の細胞に陽性で著変を認めない。

d 淋巴腺：皮質の胚芽中心における活性が稍減弱している。

b 副腎：Zona glomerulosa に於て稍不均一である。

第5項 5mg/kg 投与群

1) H. E 染色

a 肝臓：中心変性が軽度に認められるが走行の乱れは軽度である。又中心静脈に鬱血を認める。

b 腎臓：細尿管に空胞変性をみるが強度ではない。

c 脾臓：一般に鬱血がみられ、赤色髓にプラズマ細胞のみられるものがある。

d 淋巴腺：概して萎縮性である。又洞が稍開大している。

e 副腎：Zona glomerulosa が稍萎縮性である。

2) Al-P-ase 反応

a 肝臓：中心性及び周辺性に稍増強しているものもあるが、全く正常なものが多い。

b 腎臓：著変なし。

c 脾臓：著変なし。

d 淋巴腺：胚芽中心の細胞に陽性であるが多少減弱している。

e 副腎：Zona glomerulosa に於て活性度が稍減弱している。

第6項 小括

NaF 投与による主要臓器の変化としては、肝臓に於いて最も強く、多量投与群に於いて肝細胞索の乱れ、細胞の膨化、Al-P-ase の増強等の変化がみられるものがある。然しこの場合でも細胞膜は保持されて壊死の状態ではなく、且脂肪の蓄積もみられないので真に空胞である糖原質の水溶性物質の蓄積があつたのかは明確でなく、特に著明な壊死変性を来すとは考えられない。

次に腎臓では投与された NaF が最後にはここを通過する故、Al-P-ase について最も強い影響が想像されるが、実験結果としては想像に反して、多量投与の場合僅かに減弱の傾向が見られる程度で、その量的消長には著変のみられないものが多い。唯細尿管、特に主管に於ける空胞変性、瀾濁腫脹が主な変化である。

脾臓では殆んど変化はみられず、膝窩部淋巴腺に於いては、皮質の胚芽中心が多量投与の場合萎縮性となり Al-P-ase も苦減する。副腎では Zona glomerulosa は萎縮性になり Al-P-ase も稍減少する傾向がみられた。又鬱血も屢々みられるがこれは対照群でも多く認められるもので屠殺時の条件によるものと考えられる。以上の所見を総合すると、肝腎等に退行変性が可成り強度に認められる事もあるが、弗素投与による特異性の変化はなく、且つ軽度の変性は修復可能な程度のものである。

第4章 総括並びに考按

以上の実験成績によると、弗素投与群に於いては一般状態の障害は認められず、体重曲線も対照群との間に有意の差を認め得ない。且つ又臓器所見に於いても多量投与群に於いて若干の退行変性が認められたが、弗素投与による特異的な変化はさ程著明ではないに拘らず、前章第8節に記述した如く骨変化は比較的著明であつた事から、此等の特異的な骨変化は弗素障害によるものと見做し得る。

即ち、弗素投与によつて、部分的な仮骨吸収遅延による軟骨成分の長期遺残がみられる反面、一部に於いては過度の石灰沈着による部分的硬化像が認められ、これらの変化が交錯し、全般としては極めて不均一な骨折治癒像を示し、しかも多量投与群程顕著であつた。此の様な特異的な骨変化が如何なる作用機序によつて惹起せられるであらうか考察を加えてみたい。

文献的にみると P. Flemming (1932) は水晶石工場労働者の詳細な調査を行い、全般的な骨硬化の起る事を指摘した。即ち脊椎骨に於いては変形性脊椎症の如きレ線像を呈するものが多く、その高度なものでは強直性脊椎症の如き所見がみられ、長管骨に於いても骨皮質の緻密化と共に幅員の増加、骨髓腔の狭少を示し、これらの変化は長期勤続者程強くみられると述べ、K. Roholm (1936) も同様に水晶石工場従業員に広汎な骨硬化、靱帯の化骨現象を認めている。又 Speder (1936) は磷産地に大理石病様のレ線所見を呈するものが多い事から、それが弗化カルシウムによる中毒に起因するとの説を主張している。

斯の如くたとえ僅かづつでも長期に亘り弗素が気道或は口腔を通じて人体に入ると慢性中毒症状として骨硬化を来す事を Callam (1935) Brissemoret 等は臨床に応用し、骨折時の仮骨形成不全、骨の化膿性疾患等に用い好結果を得たと報告している。然し Volkman (1935) は骨折遷延治癒に応用したが、特に良好な結果は得なかつたと述べている。

一方実験的研究については多くの業績があるが、Brandl, Sutro 等が骨硬化を認めているのみで、多くのものは人体におけると全く異り、骨粗鬆症或いは骨軟化の傾向の強い事を指摘し、骨強度の減弱を来し易いとの報告もみられる。而し全般的な骨成長に対する影響を検索した島田の詳細な実験的研究によると、多量を投与したものでは骨皮質に於ける骨髓側の窩状吸収機転が皮質に著明であると同時に、骨新生機転も起り複雑な所見を呈するが、少量投与の場合では先づ吸収機転が強く起り、長期投与により次第に造骨細胞の機能が亢進して新生骨発生が強くなり、骨皮質の肥厚、髓腔の狭少等の骨硬化機転を生ずると述べている。

一方歯牙についても多くの報告がみられ、弗素中毒動物に於いては白色に濁濁した珐瑯質縁と正常の珐瑯質縁とが相交錯する縁を示し、更に高度なものでは珐瑯質は全般的に白色になり、小凹窩を呈して脆く折れ易くなり又強く磨滅される傾向が指摘され、組織学的にも珐瑯質及び象牙質の不完全な化骨を来すと共に、

珐瑯質上皮の萎縮像がみられ、不規則な發育を示す事が報告されている。

然し乍ら以上の実験は骨及び歯牙に対する全般的な影響をみたものであり、組織損傷実験を行つていないので、局所の組織反応に対する影響を直接観察し難いうらみがある。

一方骨折治癒機転に及ぼす弗素の影響についての実験的研究は極めて少く僅かに Brasovan u. Serdransic の報告をみるのみであるが、それによると骨折後に弗素投与を開始した家兎では仮骨形成は促進されないが予め長期間弗素を与えた後に骨折し、更に骨折後も引続いて弗素を投与した家兎では骨折治癒が促進されると結論している。然し著者の実験では仮骨量の問題よりも質的变化により多くの特異性が認められた。即ち骨折治癒過程中仮骨形成の促進されるものもあるが、これは必ずしも毎常促進されるものではなく、むしろ治癒過程の不規則性に依る骨質改造の阻害も同時に認められた。此等の変化は Reynolds, Corrigan 等のレ線の分析による骨組織の結晶構造の研究に於いて結晶の大きさの増加或いは不均等質がみとめられた事と一致するものであり、特に Al-P-ase 反応等の組織化学的所見から、その不均一性は明瞭に認められた。

次に骨折局所の修復過程に弗素が如何なる作用機序でこの様な変化を惹起するかについては、著者の実験結果から、Phosphatase 等の酵素系に対する障害及び弗素イオンそのものの石灰親和性との二面から考察し得られる。

即ち、骨の無機物構成は概略して

$\text{CO}_3(\text{PO}_4)_2$	85.1%
$\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5%
Ca F_2	0.3%
Ca Cl_2	0.2%
Ca CO_3	10.0%
アルカリ塩類	2.0%

とされているが、大量の弗素を連日注射して、いわば弗素中毒の状態にある時、骨折を惹起せしめ、更に弗素注射を継続すると、新陳代謝の特に烈しく行われている骨折部に何らかの形で弗素が蓄積されて来る事が想像される。しかも弗素はカルシウムに対する親和性が極めて強い為、正常であれば主として磷酸或いは、炭酸カルシウムとして骨結晶を形成すべき石灰沈着の場に、 Ca F_2 としての沈着が過剰に形成される。従つて正常組成の生成を妨げ、 Ca 沈着量は全体として増加促進されるとしても、異質の仮骨乃至新生骨梁が形

成される可能性が考えられる。この事は、特に多量投与の場合、骨端軟骨の原始骨梁に軟骨基質の遺残が一定の部に殆んどみられず、恰も過剰石灰沈着の起っている事を認めた事、又骨折部に於ても未だ軟骨細胞軟骨基質の存在する部位に不均一な過剰石灰沈着が認められ、Al-P-ase 活性も対照群と多少異なる事等から骨折修復過程における石灰沈着及び新生骨組織構成の異常性が推察される。

次に弗化ソーダは一般に Phosphatase や或種の酸化還元酵素に対し著明な抑制作用を有する事が知られている。組織化学的に、対照群と弗素投与群との定量的比較をする事は困難であり、Al-P-ase の全般的な減弱傾向は認め得なかつたが、Al-P-ase 出現部位、及びその活性度の強弱については、弗素投与群は対照群に比し極めて不均一性を示し、軟骨化生或いは結合織性細胞の直接化生の行われつつある部分及び仮骨の吸収、破壊において著明な差異がみられた。

即ち、造骨細胞自体は対照群と全く同様に強陽性を示すが、破骨細胞は一般に減弱の傾向がみられ、殊に類骨梁の形成部附近に於ける該細胞は多量投与群では殆んど陰性を示した。又軟骨細胞は増殖しつつある部分、及び泡状化する前段階では増強するものであるが弗素投与群に於いては Al-P-ase 陰性の軟骨細胞が骨折中期、後期に於いても屢々集団をなして遺残する反面、部分的には強陽性を示すものもあり、対照群に比してその分布状態が著しく不均一であつた。此の事は骨折修復の不規則性を示すものであり、特に外仮骨の類骨梁組織への影響が強く認められた。又、多量投与群に於いて破骨細胞における Al-P-ase 活性の減弱傾向が特徴的であつたが、造骨細胞その他に於いては同細胞における著明な減少は認められなかつた。此等の実験成績からみれば弗素の Al-P-ase に対する阻害作用によつて骨折治癒機転の不均一性を示すと云うよりも、むしろ Al-P-ase 活性はそれ以外の要素に起因して生じた不均一性を結果的に表わしていると考えたい。且つ又、石灰沈着或いは骨形成は数次の複雑な過程を経て行われるものであり、単なる磷酸エステル分解酵素である Al-P-ase のみを以て論ずる事の出来ないのは当然である。然し乍ら Al-P-ase がその過程の一部に於いて何等かの重要な役割を演じている事は認め得るし、赤星も述べている如く、骨軟骨組織における Al-P-ase は骨折局所における磷酸及びエステルの平衡調節にも関与すると考えるならば、弗素投与群における Al-P-ase の分布の不均一性、及び破骨細胞

における Al-P-ase の減弱する事実から、局所に過剰に生じた類骨梁組織の構成成分は磷酸カルシウムよりも弗化カルシウム成分の方が遙かに多いのではなからうかと推論し得る。即ち、弗化カルシウムとしての石灰沈着は過剰に生成されるが、正常な修復時の主構成成分である磷酸カルシウムが少いためその吸収及び新生骨への置換が不均一で、且つ遅延するものと考えられる。

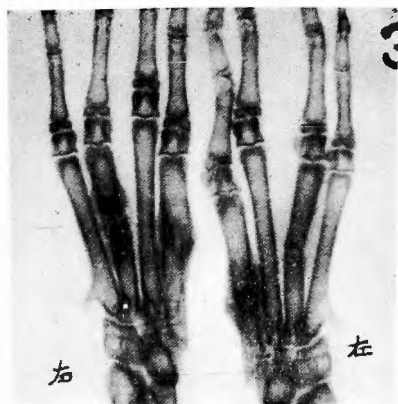
次に PAS 反応とメタクロマジー反応について述べると、一般に PAS 反応は大部分の多糖類に陽性にあらわれるものであるが、本実験に於いて、切片を過ヨード酸液で前処置しないで直接 Shiff 氏液に入れた場合の反応は全く陰性であつた事から、軟骨中にあらわれる PAS 反応は単なるアルデヒドによつて起るものではない。又コンドロイチン硫酸は一種の多糖類であるアセチルガラクトーゴアミンとグルクロン酸との等分子部分よりなる粘液多糖類で、グリコール基が置換されている為に PAS に反応しない筈であり、PH 2.5 におけるメタクロマジー反応はコンドロイチン硫酸の存在を示すものと考えてよい。

本実験に於いて、軟骨細胞内にメタクロマジー陽性、軟骨細胞外性に PAS 反応陽性を呈した事は、軟骨細胞内のコンドロイチン硫酸が石灰沈着の過程に於いて硫酸のエステル結合を解き、何等かの形で蛋白その他と結合して間質乃至は骨質に移行すると考えられる。又 PAS 及びメタクロマジー反応両者とも弗化ナトリウムの骨治癒機転に及ぼす作用機序の本質の説明には有力ではなく、何れもその結果を示すものである。然し乍ら H. E 染色で判明し難い軟骨成分の分割或いは微量な存在をこの両者によつて鮮鋭に認め得る場合もあり、弗素投与群に於いては骨折部に於ける軟骨細胞及び軟骨基質の比較的長期遺残及び仮骨及び新生骨梁形成の不均等性、骨端軟骨に於ける化骨機転の不規則性を如実に示している。

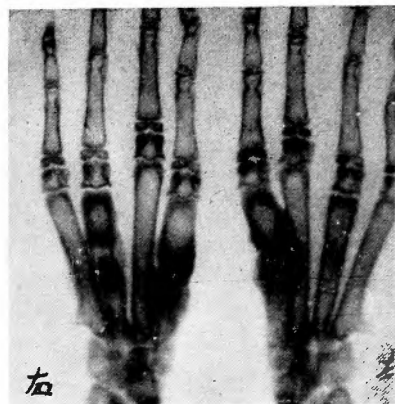
第5章 結 語

実験的弗素中毒家兔を弗素投与量の多寡に従つて4群に頒ち、その中足骨に骨折を惹起せしめた後、更に連日弗化ナトリウムの注射を続けつゝ、組織学的及び組織学的に経過を観察すると共に、骨折治癒機転に及ぼす弗素の作用機転を追求する目的で、Al-P-ase 反応 PAS 反応、メタクロマジー反応等の組織化学的検索を行い、次の如き結論を得た。

1) 弗素投与により一般状態の悪化、体重減少等は



1) 対照群



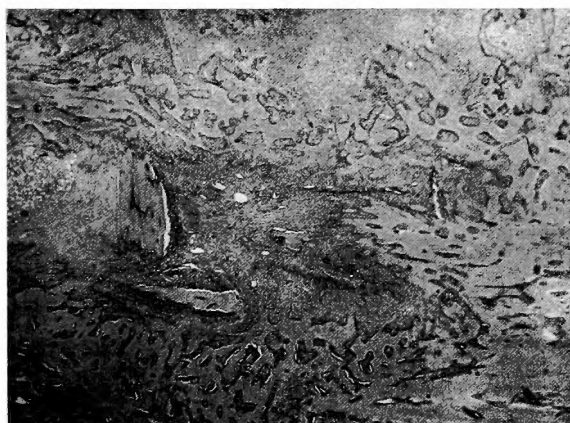
2) 40mg 投与群
仮骨形成は多いが中間透明帯の消失遅延し仮関節様を呈する



3) H. E 染色 既に (対照群 3 週後)
仮骨の形成良好で骨改造が行われつ、あり一部では海綿骨髄も形成されつ、ある



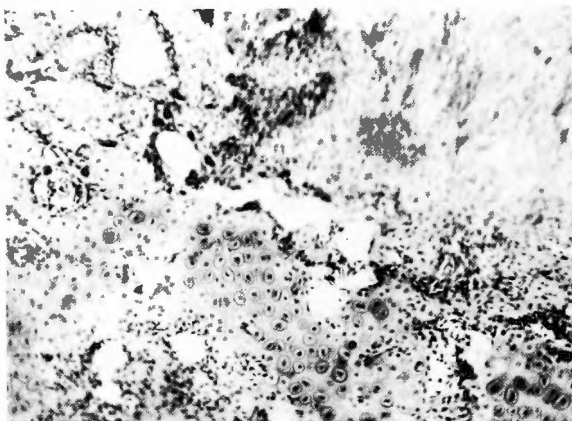
4) H. E 染色 (10mg 投与群 3 週後)
軟骨性仮骨の大量遺残と石灰化の不均一性を示す。骨改造の段階にも到つてない



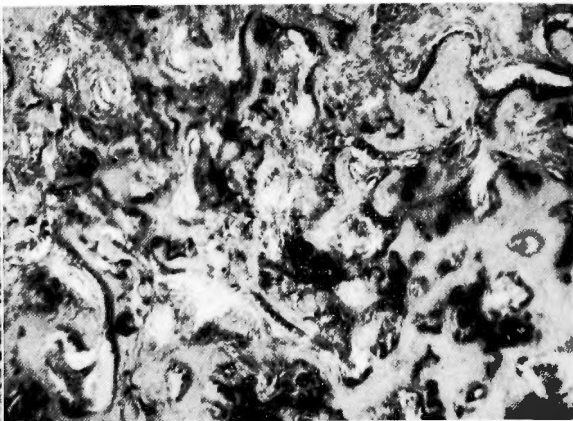
5) H. E 染色 (20mg 投与群 4 週後)
軟骨性仮骨の吸収遅延しているが一部に於ては骨改造も盛んに行われている



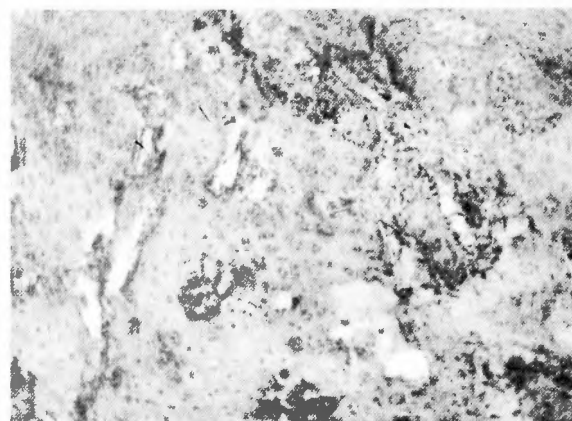
6) H. E 染色 (40mg 投与群 4 週後)
内仮骨の吸収が遅延している、軟骨成分が多く遺残している。



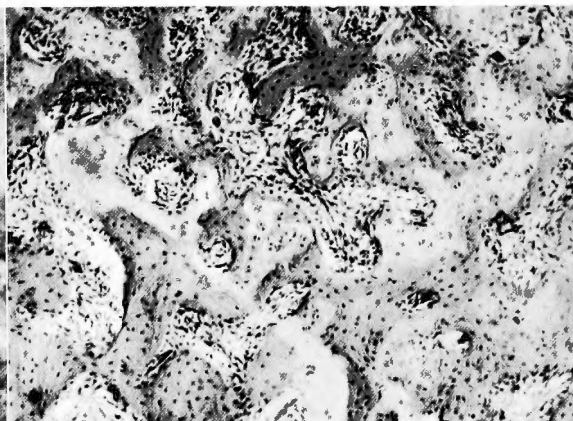
7) H. E 染色 (対照群 2 週後)
軟骨細胞群は泡状化し軟骨組織梁は整然と形成されている



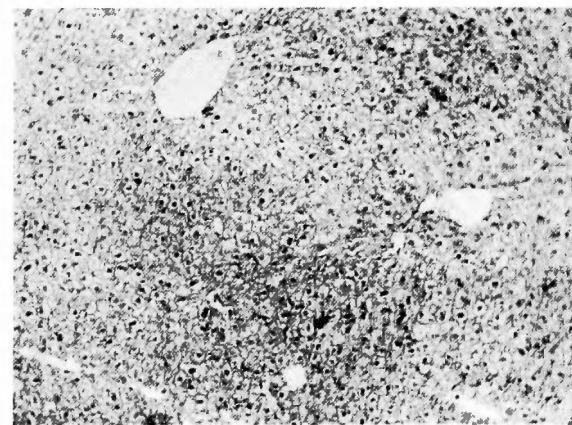
8) Al-P-ase 反応 (10mg 投与群 4 週後)
破骨細胞及び遺残細胞にも不均一性が認められる



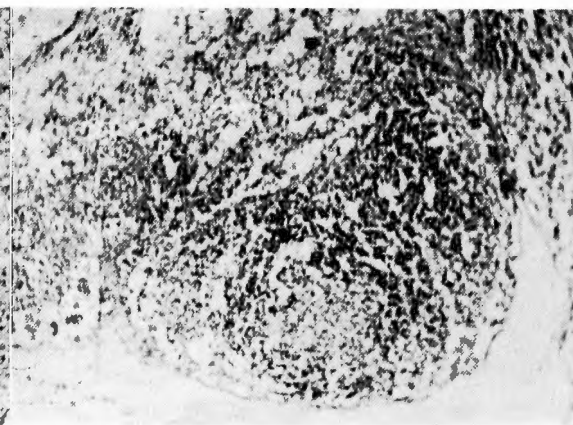
9) H. E 染色 (40mg 投与群 3 週後)
軟骨組織梁に於いて骨梁内に石灰沈着不全のため、軟骨細胞が残っている



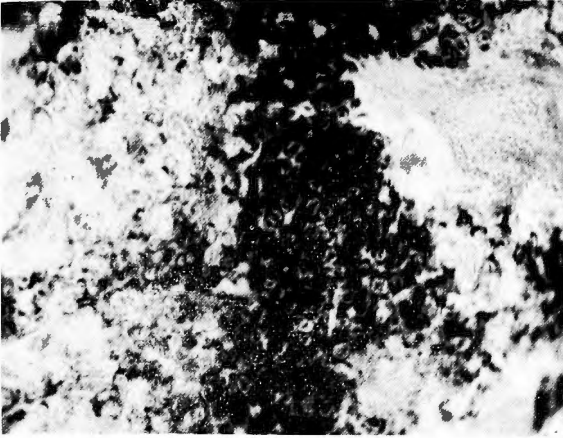
10) H. E 染色 (40mg 投与群 4 週後)
内仮骨は順調に吸収され骨髓腔が殆んど完成しているが外仮骨では、軟骨細胞及び軟骨基質 (明るい部分) から均一に高度に残存し仮骨の形成、吸収が行われていない



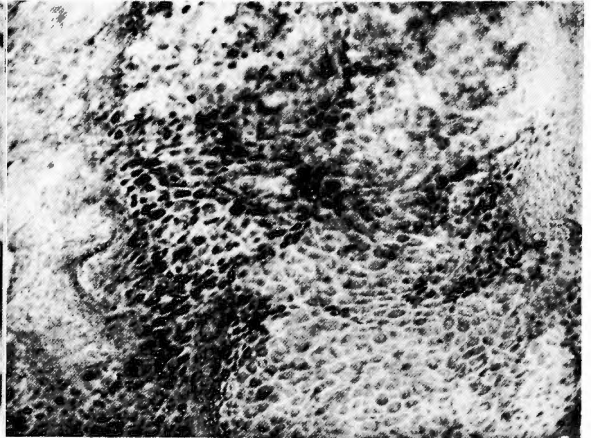
11) H. E 染色肝 (20mg 投与群 4 週後) 肝細胞索は乱れ各肝細胞は膨化し原形質の消失が認められる



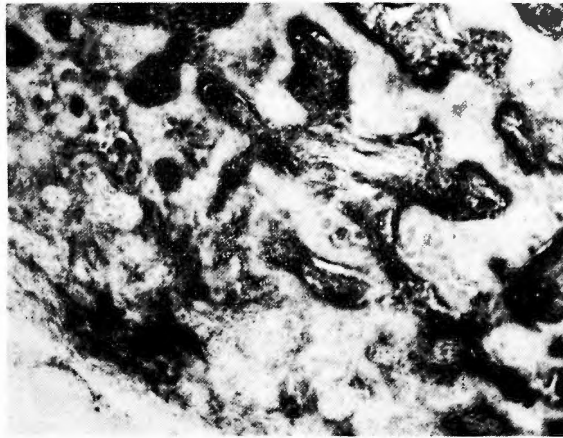
12) H. E 染色 膝窩部リンパ腺 (40mg 投与群 4 週後) 内質部芽中心が著しく萎縮性で全体として退行変性が認められる



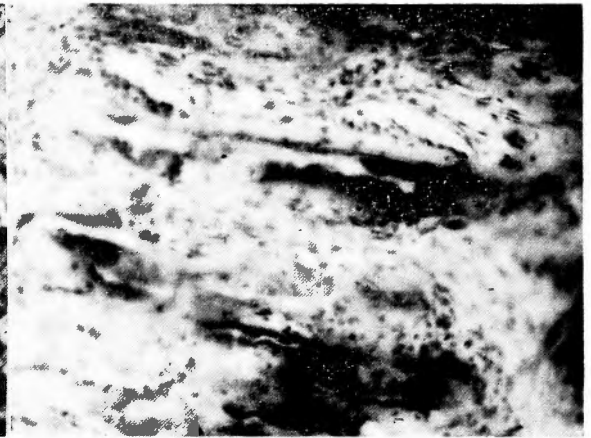
13) Al-P-ase 反応 (5mg 投与群 3 週後)
軟骨細胞及び軟骨組織梁の造骨細胞に陽性であるが、多量投与群程不規則ではない



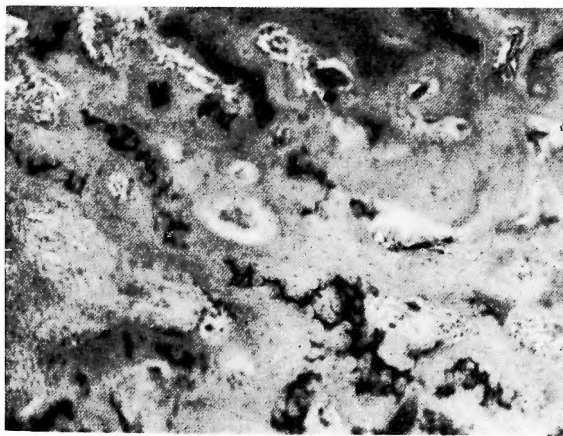
14) Al-P-ase 反応 (40mg 投与群 2 週後)
豊富に生じた軟骨細胞に陽性であるがその活性化度は強弱種々の程度に不均一である



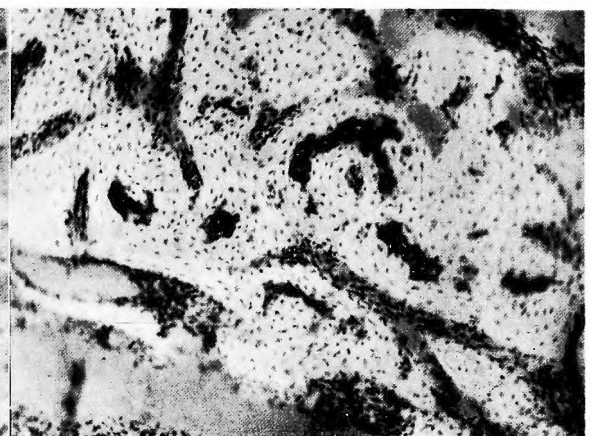
15) Al-P-ase 反応 (10mg 投与群 4 週後)
3 週後に比して仮骨の吸収は若干進行しているが尚 Al-P-ase 陽性の軟骨細胞が仮骨内に残っている



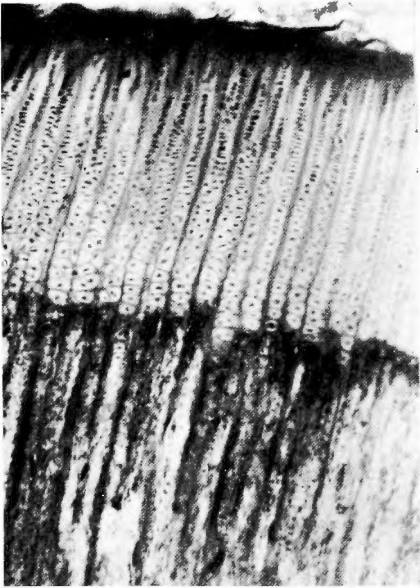
16) Al-P-ase 反応 (40mg 投与群 4 週後)
骨端部原始骨梁の可成り進行した部に残った軟骨細胞に強陽性で又中央部の Osteoblasten に強陽性にている



17) PAS 反応 (5mg 投与群 4 週後)
外仮骨は完全に置換されず仮骨内に PAS 陽性の基質が未だ遺残している



18) メタクロマジー反応 (20mg 投与群 4 週後)
内仮骨は吸収されても外仮骨にはメタクロマジー陽性の軟骨細胞及び基質が遺残している



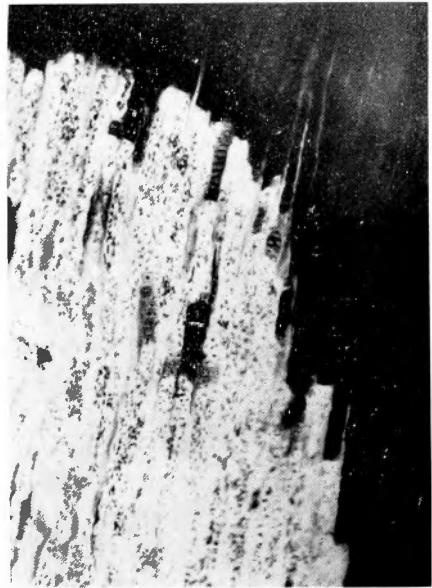
19) PAS 反応 (対照群 4 週後)
軟骨基質に陽性, 軟骨柱は整然と配列している。



20) メタクロマジー反応 (対照群 4 週後)
軟骨細胞に強陽性, 基質も弱陽性を示す。



21) H.E 染色 (40mg 投与群 4 週後)
一部軟骨柱が高度に延長している。泡状細胞が小さく且つ扁平化し泡化不全のまゝ化骨部へ移行している。又原始骨梁内に軟骨細胞の集団的遺残がみられる。



22) メタクロマジー反応 (40mg 投与群 4 週後)
メ反応陽性の軟骨柱は長短著しく不整で、原始骨梁中にメ反応強陽性の軟骨細胞集団が遺残している。軟骨基質は殆んど陰性である。

特に認められなかつた。又主要臓器に於いては特に多量投与群に於いて可成りの退行変性を認めたが骨変化程特異的でない。

2) レ線学的には骨折部の仮骨陰影は著明に認められ、骨折端に於ける骨幹皮質の硬化、肥厚が多量投与群で強い傾向が窺われたが、中央帯状透明層が比較的長期に遺残しているものも多くみられた。

3) 組織学的には、仮骨の吸収、新生骨質への置換が不均一で、部分的には石灰沈着著明であるに拘らず一部に於いては長期に亘り軟骨の遺残を認めた。即ち骨折治癒の不規則性を示して居り、骨端軟骨に於いては軟骨柱の長短の差が著しく特に成熟層、泡状層における代謝の不均衡が認められた。

4) 組織化学的検索により骨折治癒機転の不均一性が如実に認められた。殊に多量投与群では破骨細胞における Al-P-ase の減弱が認められた事から、弗素のカルシウムの結合力が強いため、骨構成分の質的異常を来し、 CaF_2 の比率が著しく増加すると考えられる。従つて部分的、異質的な石灰沈着は強く起るが、この事がかえつて仮骨の吸収、新生骨の置換を部分的に遅延せしめる一要因をなすと思考する。

稿を終るに鑑み、御懇篤な御指導並に御校閲を載いた恩師近藤鋭矢教授並に本研究に当り終始種々の御教示、御助力を載いた赤星義彦講師に衷心より感謝の意を表する。尚臓器所見については京大結研病理学部水谷昭学士の御教示を載いた事を附記して深甚の謝意を表する。

尚お本研究は文部省科学研究費の補助を受けて遂行したことを附記する。

主 要 文 献

- 1) 赤星：実験的関節結核の組織化学的研究，日外宝 27, 3, 755, 昭33
- 2) 市川：弗素中毒における硬組織のカルシウム及びアルカリフォスファターゼの変化阪大医誌, 5, 249, 昭27
- 3) 岩喬：骨折時

- のアルカリ性フォスファターゼについて，日整誌, 29, 407, 1955.
- 4) 大浦：骨組織再生作用及び骨端化骨現象に及ぼす脾臓剔除の影響の実験的研究，日外誌 36, 1853, 昭10.
- 5) 神崎武和：酵素学, 昭27, 至文堂
- 6) 久保田：家兎骨の弗素含有量について，日整誌 29, 496, 昭30
- 7) 久保田：実験的家兎弗素症における弗素の骨内分布についての考察，整形外科と災害外科, 6, 1, 32, 昭31.
- 8) 島田：弗素による骨変化について，福岡医大誌 32, 1093, 昭14.
- 9) 高松・赤星：硬組織におけるアルカリフォスファターゼの組織化学的証明法，日外宝 26, 301, 昭32.
- 10) 戸嶋・玉井：弗化物の鶏胎成分に及びす影響，神大紀要, 4, 3, 47, 昭29.
- 11) 戸嶋：慢性骨弗素中毒症の実験研究，神大紀要 4, 47, 昭29.
- 12) 中村・西：実験的弗素中毒の歯牙及び頰骨に及ぼす変化並にその予防について，日病誌, 32, 67
- 13) 吉川春寿：骨組織の石灰化，整形外科 3, 53, 1951
- 14) Arizono H. et al: Histochemical Studies on Experimental Fluorosis. Medico-Dental Researches on Fluorides 57, 1957
- 15) Bourne G. H: The Biochemistry and Physiology of Bone, 1956,
- 16) Brasovan, R. and I. Sterdarusic; Über die Fluor-natriumwirkung bei Knochenresektion. Arch. Klin. Chir., 184, 170, 1935.
- 17) Callum: Das Element Fluor als Spezifikum für die Nebenschilddrüse. Münch. med. Wsch. 1935, 2, 1534.
- 18) Flemming-Müller, P. and Gudjonsson, Sk. V.: Massive fluorosis of bones and ligamnts. Acta radiol. 13, 269, 1932
- 19) Ham, A. W.: Histology. Lippincott Company, 1953
- 20) Siffert R. S.: The role of Alkaline Phosphatase in Osteogenesis. Journ. Exp. Med. 93, 415, 1951
- 21) Takamatsu H. and Y. Akahoshi: A New Technique for the Histochemical Demonstration of Phosphatase in Hard Tissue Act. Tubercul. Jap. 6, 11, 1956
- 22) Volkmann, J.: Versuche mit Fluonatriumbehandlung bei Knochen brüchen, verzögerter Knochenbruchheilung und ähnlichen. Bruns, Beitr., Klin. Chir. 164, 487, 1935